

**СТРУКТУРНІ ЗМІНИ КОРИ ВЕЛИКОГО МОЗКУ ЩУРІВ
ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГЕМОРАГІЧНОМУ
ІНСУЛЬТІ ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ АНТАГОНІСТІВ
КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ**

Бібікова В.М.

Дніпропетровська медична академія, м. Дніпропетровськ, Україна

Ключевые слова: *геморрагический инсульт, повторный инсульт, повышается*

Вступ. Геморагічний інсульт в зв'язку з високою летальністю та інвалідністю хворих є значущою медичною та соціальною проблемою. Частота геморагічного інсульту досягає 24,4% випадків на 100 тис населення на рік. Найчастіше крововилив у мозок розвивається у хворих працездатного віку - 45-60 років. При цьому летальність на сьогоднішній час залишається високою і досягає 70% [1,2]. До повноцінного працездатного стилю життя повертаються лише 10% пацієнтів, решта до кінця життя залишаються в стані різного ступеня інвалідності та соціальної дезадаптації, що вимагає проведення подальших реабілітаційних і лікувально-профілактичних заходів.

Існує ряд досліджень присвячених діагностиці, особливостям розвитку та перебігу різних клінічних форм інсульту, питань терапії та відновлення [3]. Вивчення проблеми геморагічних інсультів істотно підвищило інтерес до прогнозування результатів захворювання. Доцільність прогнозування наслідків геморагічних інсультів обумовлена можливістю планувати комплекс діагностичних і лікувальних заходів у кожному конкретному випадку, що може істотним чином поліпшити якість лікування цієї важкої патології та зменшити летальність.

В сучасній неврології антагоністи кальцію розглядаються лише в якості антигіпертонічних, антиангінальних препаратів, що застосовуються для

профілактики інсульту, в першу чергу ішемічного, але є незначна кількість робіт присвячена застосуванню антагоністів кальцію у хворих після геморагічного інсульту. В роботах показано, що високі дози внутрішньоартеріального введення верапамілу викликає збільшення внутрішньочерепного тиску і зниження церебрального перфузійного тиску, з подальшим збільшенням рівня глюкози в мозку [14]. Результати проведених досліджень вказують на те, що блокатори кальцієвих каналів можуть бути перспективними для майбутніх клінічних застосувань при первинних або вторинних ішемічних ушкодженнях головного мозку [11]. Однак, цей напрям потребує подальшого дослідження.

Мета роботи – експериментально дослідити порушення в корі великого мозку щурів при геморагічному інсульті та за умов застосуванні антагоністів кальцієвих каналів у відновлюваний період.

Матеріали і методи. Дослідження були проведені на 80 білих лабораторних щурах самках масою 200-220 г. Тварини були поділені на 4 групи: інтактні (n=10), псевдооперовані (n=10), тварини з експериментальним первинним та повторним геморагічним інсультом (n=30) та щури із первинним та повторним геморагічним інсультом з застосуванням верапамілу (n=30). Щурів наркотизували інтраперитонеальним введенням розчину тіопенталу натрію (60 мг/кг). Відтворення обмеженого крововиливу у тварин із застосуванням стереотаксичного методу [5] здійснювали механічною деструкцією тканини мозку в ділянці внутрішньої капсули (capsula interna, L=3,5-4,0; H=6,0; AP=0,6-1,0) [13] в межах правої півкулі за допомогою мандрена-ножа із додатковим введенням в область деструкції 0,1 мл аутокрові. Псевдооперованим тваринам проводили такі ж процедури, але без застосування механічної деструкції внутрішньої капсули. Після проведення нейрохірургічного оперативного втручання рану наглухо зашивали ниткою 10/0 ("Ethicon" Шотландія) та обробляли 5% спиртовим розчином йоду. Для моделювання повторного інсульту дослідним щурам повторно моделювали інтрацеребральну гематому за вказаними координатами вище. Верапаміл вводили щурам

внутрішньоартеріально у дозі (0,1 мг/кг) протягом 1 тижня після ремоделювання ГІ.

Через 6 місяців після моделювання гострого геморагічного інсульту у тварин, що вижили, із хронічною недостатністю мозкового кровообігу (ХНМК) проводили інтракардіальну перфузію 4% розчином параформальдегіду в 0,1н фосфатному буфері (рН 7,4). З метою вивчення окремих морфологічних показників клітин виготовляли 10-мікронні зрізи сенсомоторної кори великих півкуль головного мозку за допомогою кріотому, фарбування гістологічного матеріалу здійснювали за методом Ніссля [4].

Морфометричні дослідження проводились на мікроскопі OlympusBX 51 (Японія). Морфометричні дослідження проводили в тест-зоні розміром 1мм². Аналіз морфометричних показників нервових клітин цереброкортексу здійснювали на основі змін площі ядер та перикаріонів нейронів. Дегенеративно зміненими вважались нейрони з ознаками цитолізу, каріолізу, з гомогенно профарбованими ацидофільними ядрами або із ознаками пікнозу [9].

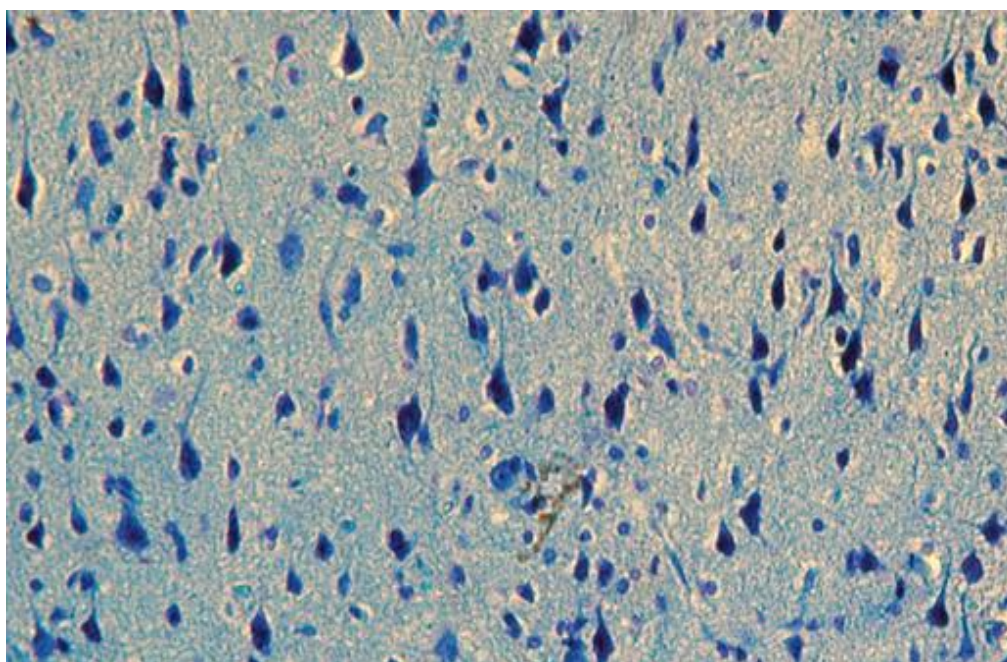
Статистична обробка отриманих даних проводилась із використанням стандартних методів обробки результатів у пакетному редакторі Excel. Відмінності між групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента, а достовірними вважались результати з рівнем значущості більше 95% ($p < 0,05$).

Результати та обговорення. Через 6 місяців після моделювання геморагічного інсульту в корі мозку реєстрували виражені нейродегенеративні процеси, ознакою яких були більша кількість нейронів гіперхромного зафарбовування, що свідчить про суттєві метаболічні порушення. При цьому ступінь загибелі нейронів був інтенсивніший у тварин із повторним інсультом (Табл. 1). Середня площа ядер нейронів при геморагічному інсульті склала $208,1 \pm 8,7$ мкм², що достовірно більше показників інтактних та псевдооперованих тварин (Табл. 2).

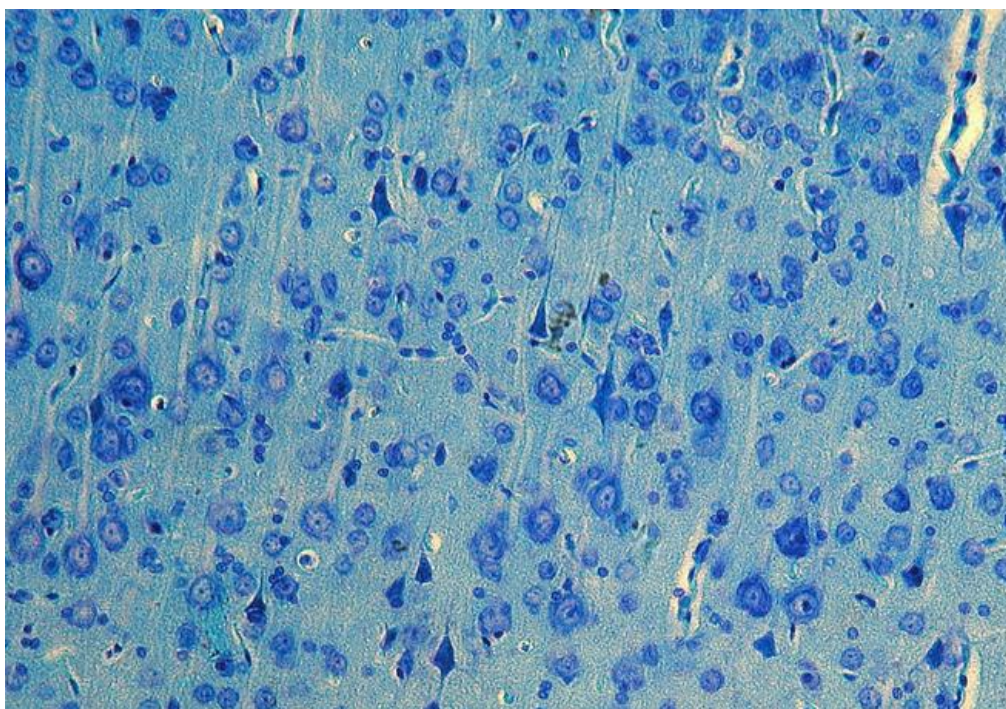
Застосування верапамілу суттєво впливає на розвиток нейродегенеративних процесів на 6 місяць після моделювання геморагічного

інсульту. Морфологічні зміни в корі великого мозку характеризувались зменшенням кількості набряклих та гіперхромних нейронів. При цьому ознаки периваскулярного набряку все ще реєструються (Рис. 1).

Встановлено достовірне ($<0,05$) збільшення кількості нейронів в порівнянні із тваринами, що не отримували верапаміл. Зокрема, середня кількість нейронів у тварин із первинним геморагічним інсультом становила $561,1 \pm 17,1$ клітин/ мм^2 , а при повторному – $501,4 \pm 12,9$ клітин/ мм^2 , що достовірно більше на 7% і 10% (Табл. 1). Зменшення процесу набряку клітин знайшло своє відображення в морфометричних параметрах нейронів. Середня площа нейронів V шару кори великого мозку при первинному інсульті склала $335,6 \pm 19,4$ мкм^2 , а у тварин із повторним геморагічним інсультом – $339,8 \pm 14,2$ мкм^2 , тобто достовірно не відрізнялись (Табл. 2). При цьому середня площа ядер пірамідних нейронів достовірно збільшилась на 8-12%. Враховуючи морфологічні особливості цих клітин, встановлено, що ці зміни спричинені не набряком клітин, а їх функціональною активацією, оскільки тотальної ектопії ядер та деструкції в нейронах на 6 місяць не реєстрували.



a



б

Рис. 1. Структура кори великого мозку білих щурів при повторному геморагічному інсульті. Умовні позначення: а – повторний інсульт; б – повторний інсульт із застосуванням верапамілу. Термін: 6 місяців після моделювання повторного геморагічного інсульту. Фарбовування за Ніслем.

Об. 20, ок. 10.

Таблиця 1.

**Динаміка нейродегенеративного процесу
кори великого мозку**

№	Група	Щільність нейронів, клітин/мм ²	
		Первинний геморагічний інсульт	Повторний геморагічний інсульт
1	Інтактні	709,8±10,3	
2	Псевдооперовані	685,7±9,8	
3	6 місяців	510,6±11,9a,b	471,3±7,3a,b
4	6 місяців+ +верапаміл	561,1±17,1a,b,c	501,4±12,9a,b,c

а-достовірно по відношенню до інтактних тварин ($p<0,05$);

б-достовірно по відношенню до псевдооперованих тварин ($p<0,05$).

с-достовірно по відношенню до групи 3 ($p<0,05$);

Таблиця 2.

Зміни морфометричних параметрів нейронів V шару кори великого мозку

№	Група	Первинний геморагічний інсульт		Повторний геморагічний інсульт	
		Площа нейрона	Площа ядра	Площа нейрона	Площа ядра
1	Інтактні	320,6±9,6	164,5±6,8	-/-	-/-
2	Псевдо-оперовані	340,1±8,6 а	187,1±7,1 а	-/-	-/-
3	6 місяці	321,5±28,4	208,1±8,7 а,б	321,4±12,1	186,9±11,8 а
4	6 місяці+ верапаміл	335,6±19,4	225,0±12,2 а,б	339,8±14,2	210,8±15,5 а,б,с

а-достовірно по відношенню до інтактних тварин ($p<0,05$);

б-достовірно по відношенню до псевдооперованих тварин ($p<0,05$);

с-достовірно по відношенню до групи 3 ($p<0,05$);

Як свідчать отримані нами дані, пригнічення патологічного току іонів кальцію може захистити ішемізовані нейрони і, ймовірно, зменшити неврологічні порушення після інсульту. Антагоністи кальцієвих каналів знижують нейродегенеративні зміни в корі мозку у віддалений період інсульту при повторному інсульті. Одержані результати дозволяють доповнити матеріали, які відповідають розповсюдженню точкою зору [8], що антагоністи

кальцієвих каналів можуть знизити ризик розвитку повторного інсульту у пацієнтів.

Висновки.

1. Встановлено, що при повторному інсульті розвиваються значні морфологічні зміни, що спричиняють віддалену нейродегенерацію у головному мозку (периваскулярний та перицелюлярний набряк).

2. Застосування селективних антагоністів кальцієвих каналів зменшує ступень розвитку ішемічного ураження та здійснює нейропротекторний вплив при геморагічному інсульті.

3. Перспектива подальших досліджень у даному напрямку полягає у вивченні за допомогою функціональних методик процесів відновлення на різних етапах відновлювального періоду за умов застосування верапамілу.

Рецензент: член-кор. НАМН України, д.мед.н.,

Професор Ю.Б. Чайковський

ЛІТЕРАТУРА

1. Батищева Е. А. Геморрагическая трансформация инфаркта головного мозга: клинко-томографическая структура, факторы риска, влияние на ранний клинический исход: автореф. дис.. д-ра мед. наук. - М., 2009.-52 с.

2. Геморрагический инсульт : практическое руководство / под. ред. В.И.Скворцовой, В.В. Крылова. -М. : ГЭОТАР-Медиа, 2005. 160 с.

3. Крылов В. В. Хирургическое лечение больных с нетравматическими внутримозговыми кровоизлияниями // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова 2007. – Приложение – С. 42

4. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – М.: Мир, 1969. – 648 с.

5. Макаренко А.Н.,Косицын Н. С., Пасекова Н. В, Свинов М. М. Метод моделирования локального кровоизлияния в различных структурах головного

мозга у экспериментальных животных // Журн. высш. нервн. деятельн. – 2002. – Т.52, №6. – С. 765-768.

6. Пирадов М.А. Современные методы диагностики инсульта и других форм сосудистой патологии мозга // Медицинская кафедра. – 2006. №2. – С. 20-28

7. Garcia-Alloza M., Gregory J., Kuchibhotla K., Fine S., Wei Y., Ayata C., Frosch M., Greenberg S., Bacskaï B. Cerebrovascular lesion induce transient β -amyloid deposition // Brain. – 2011. – Vol. 134, N 12. – P. 3697-3707.

8. Inzitari D., Poggesi A. Calcium channel blockers and stroke // Aging Clin Exp Res. – 2005. – Vol. 17(4 Suppl). – P. 16-30.

9. Jara H., García F., Torres F., Lechin F. – An Effective Neuroprotective Treatment in Ischemic Stroke and Cerebral Trauma with Low Doses of L-Arginine, Lamotrigine and Tianeptine // School of Doctoral Studies (European Union) Journal. – 2011. – P. 121-133.

10. Mandelzweig L., Goldbourt U., Boyko V., Tanne D.: Perceptual, social, and behavioral factors associated with delay in seeking medical care in patients with symptoms of acute stroke // Stroke. – 2006. – Vol. 37. – P. 1248-1253.

11. Merkel M.J., Brambrink A.M. Ischemic complications in neurosurgery: use of calcium antagonists // Anaesthesist. – 2008. – Vol. 57(8). – P. 794-802.

12. Onwuekwel O., Ezeala-Adikaibe B. Ischemic stroke and neuroprotection // An. Med. Health Sci. Res. – 2012. – Vol. 2, issue 2. – P. 186-190.

13. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego: Academic Press, 2008. – 400p.

14. Pierot L., Aggour M., Moret J. Vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: recent advances in endovascular management // 2010. – Vol. 16(2). – P. 110-116.

15. Stuart R.M., Helbok R., Kurtz P., Schmidt M., Fernandez L., Lee K., Badjatia N., Mayer S.A., Lavine S., Meyers P., Connolly E.S., Claassen J. High-dose intra-arterial verapamil for the treatment of cerebral vasospasm after

subarachnoid hemorrhage: prolonged effects on hemodynamic parameters and brain metabolism // Neurosurgery. – 2011. – Vol. 68(2). – P. 337-345.

**СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОРЫ БОЛЬШОГО
МОЗГА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ
ГЕМОРРАГИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ
АНТАГОНИСТОВ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ**

Бибикова В. Н.

Днепропетровская медицинская академия,

Днепропетровск, Украина

Резюме. Отдаленные нейродегенеративные изменения мозга при инсульте связано с увеличением тока ионов кальция в нейроны. Применение антагонистов кальциевых каналов может повысить защитные процессы в нейронах и функциональное восстановление. Проведено экспериментальное исследование отдаленных изменений в коре головного мозга через 6 месяцев после первичного и повторного геморрагического инсульта. Установлено, что развитие ишемии и отека ткани мозга вызывает гибель 25-30% нейронов коры головного мозга. Применение верапамила повышает выживаемость нейронов в пределах 5%.

Ключевые слова: геморрагический инсульт, повторный инсульт, повышается.

**STRUCTURAL CHANGES OF RAT CEREBRAL
CORTEX AT EXPERIMENTAL HEMORRHAGIC
STROKE AND APPLICATION OF CALCIUM
CHANNEL ANTAGONISTS**

Bibikova V.N.

Dnipropetrovsk state Medical Academy,

Dnipropetrovsk, Ukraine

Summary. Remote neurodegenerative changes in the brain after stroke promoted of calcium ions flowing into neurons. The use of calcium channel antagonists may increase protective processes in neurons and functional recovery. The experimental researches of remote changes in the cerebral cortex after 6 months of first and recurrent hemorrhagic stroke were done. We found that the development of ischemia and edema of brain tissue causing the death of 25-30% of neurons in the cerebral cortex. Verapamil increases survival of 5% neurons.

Key words: hemorrhagic stroke, recurrent stroke, verapamil.